

München 1960

Hyaluronidasehemmung bei langzeitigen Oestransulfatgaben

von

URSULA  ESPER

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Hyaluronidasehemmung bei langzeitigen Oestronsulfatgaben

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Ursula Esper
aus
Wittlich /Mosel
1960



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. Dr. H. Eyer

Tag der mündlichen Prüfung: 25.10.1960

Inhaltsverzeichnis

Problematik	4
Eigene Versuche	6
Methodik	6
Versuchsreihen	7
Berechnung der prozentualen Hemmung	9
Statistische Auswertung	9
Diskussion	14
Zusammenfassung	16
Tabellenanhang	17
Literaturverzeichnis	31



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Problematik

In früheren Arbeiten haben M a t h i e s ¹⁻¹⁰ und Mitarbeiter ¹¹⁻²⁷ am Beispiel verschiedener hyaluronidasehemmend wirksamer Stoffe nachgewiesen, daß ihre Wirkung an eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark gebunden ist. Im Zusammenhang mit bereits vorliegenden Arbeiten von D o m e n j o z ²⁸ konnte gezeigt werden, daß eine Aktivierung der Nebennierenrinde zwar stattfindet, jedoch für die hyaluronidasehemmende Wirkung nicht maßgebend ist.

Im Einzelnen haben die genannten Untersuchungen ergeben, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung bei adrenaletomierten Ratten ausbleibt, dagegen bei hypophysektomierten Tieren erhalten ist. Diese Ergebnisse besagen, daß die Nebenniere für den hyaluronidasehemmenden Effekt entsprechend wirksamer Substanzen erforderlich ist. Bei hypophysektomierten Ratten bleibt die bei intakten Ratten unter hyaluronidasehemmenden Substanzen sichtbare Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere, die nach S a y e r s und S a y e r s ²⁹ als Ausdruck der inkretorischen Aktivität der Nebennierenrinde anzusehen ist, aus. Da gleichzeitig bei hypophysektomierten Ratten die Hyaluronidasehemmung erhalten bleibt, kann die inkretorische Funktion der Nebennierenrinde nicht für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung verantwortlich gemacht werden. Es bleibt demnach anzunehmen, daß die Hyaluronidasehemmung an eine Nebennierenmarkfunktion gebunden ist. Diese Annahme wurden durch die Ergebnisse von M a t h i e s ³⁰ und S c h e u f e l e ¹¹ gestützt, nach denen sowohl Adrenalin als auch Noradrenalin auch bei adrenaletomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung hervorrufen.

Weiter haben M a t h i e s ³¹ und Mitarbeiter ^{24,25,32} am Beispiel des Natriumsalicylates, des Prednisolons und der Moorbäder nachweisen können, daß die durch Ergotamintartrat mögliche Blockierung der hyaluronidasehemmenden Wirkung der Nebennierenmarkcatecholamine auch bei hyaluronidasehemmenden Substanzen und Behandlungsmethoden Gültigkeit besitzt. Es konnte damit gezeigt werden, daß ein Adrenolyticum die Wirkung von hyaluronidasehemmenden Substanzen aufzuheben in der

Lage ist. G l ü c k ²³ hat die von den Oestrogenen bekannte hyaluronidasehemmende Wirkung am Oestransulfat reproduzieren können und ebenfalls den Ausfall der Wirkung durch vorherige Gabe von Ergotamin-tartrat gezeigt.

Die genannten Versuche von M a t h i e s ³⁰ und S c h e u f e l e ¹¹ haben ferner ergeben, daß die Hyaluronidasehemmung durch die Nebennierenmarkkatecholamine nicht während der primären Katecholaminwirkung, die an der Pupillenweite registriert werden kann und von ihrer Kreislaufwirkung bekannt ist, auftritt, sondern erst nach Ablauf einer gewissen Zeit, die dosisabhängig zu sein scheint, indem größere Mengen zu einer späteren Hyaluronidasehemmung führen. Nach Untersuchungen von S c h l i e r f ¹², die dieser mit über 2 Stunden laufenden Adrenalindauerinfusionen durchführte, besteht keine zeitliche Abhängigkeit vom Beginn der Katecholaminwirkung. Vielmehr tritt die Hyaluronidasehemmung erst bestimmte Zeit nach dem Abfall des überhöhten Blutspiegelniveaus ein. Es ist damit wahrscheinlich, daß eine "Gegenregulation" auf den Abfall des Katecholaminspiegels einen Wirkungsablauf beinhaltet, in dem eine oder mehrere Faktoren wirksam werden, die letztlich die Hyaluronidasehemmung auslösen. Da ein hyaluronidasehemmender Effekt des Heparins als körpereigene Substanz bekannt ist, der nach Untersuchungen von M a x e i n ³³ auch bei adrenalektomierten Tieren sichtbar ist und durch Protaminsulfat als heparininaktivierender Substanz blockiert werden kann, wurden von M a t h i e s ³¹ und Mitarbeitern ^{24,25,32} Versuche durchgeführt, nach denen z.B. Natriumsalicylat, Prednisolon und Moorbäder keine hyaluronidasehemmende Wirkung entfalten, wenn vorher Protaminsulfat injiziert wurde. Damit ist es wahrscheinlich, daß Heparin oder zumindest eine chemisch verwandte, im Körper vorkommende Substanz, in der "Gegenregulation" auf den Katecholamineffekt Hyaluronidase hemmend wirksam wird, und G l ü c k ²³ hat die zuletzt genannten Versuche als auch für Oestransulfat gültig reproduzieren können, indem die hyaluronidasehemmende Wirkung des Oestransulfats nach vorheriger Protaminsulfatgabe ausbleibt. Die noch hyaluronidasehemmend wirksamen Heparinmengen sind mit etwa 1,5 E/100 g Ratte äußerst gering und geben keinen deutlichen Einfluß auf die Blutgerinnungsverhältnisse mehr. Sie sind also mit Testen nicht faßbar, die einen Einfluß auf die Blutgerinnung zur Grundlage haben. W i l l m s ³⁵ hat unter Verwendung eines Heparinabkömmlings ohne blutgerinnungsverlängernde

Wirkung festgestellt, daß der hyaluronidasehemmende Effekt der Heparinoide unabhängig vom Effekt auf die Blutgerinnung ist.

In der vorgelegten Arbeit sollte untersucht werden, inwieweit ein Dauereffekt der Hyaluronidasehemmung durch Oestransulfat nach länger dauernder Applikation vorliegt und welche Rolle bei einer etwaigen Dauerwirkung nach Absetzen der Medikation einer Nebennierenmarktätigkeit und einer Mitwirkung des Heparins zukommt.

Eigene Versuche

Methodik

Es wurden 20 männliche weiße Ratten im Anfangsgewicht von 140 bis 240 g verwendet. Die Hyaluronidasehemmung der zu prüfenden Substanzen wurde jeweils nach 4wöchentlicher täglicher subcutaner Injektion durch je zwei intracutane Quaddeln von 0,1 ccm einer Evansblaulösung (mit physiologischer NaCl-Lösung auf 1% einer 6%igen Stammlösung verdünnt) und je zwei Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln bestimmt. Zur Herstellung der Farbstoff+Hyaluronidase-Lösung wurde eine Trockenampulle Hyaluronidase (Kinetin) enthaltend 150 IE in 2 ccm der oben genannten Evansblaulösung gelöst, so daß bei der Injektion von 0,1 ccm 7,5 IE Hyaluronidase zur Wirkung kamen.

Die Quaddeln wurden mit einer dünnen Kanüle streng intracutan in die mit Pilca enthaarte Bauchhaut gesetzt. Nach 10 Minuten wurde die Ausbreitung der Farbstoff-Flecke bestimmt und zwar durch Übertragung ihrer Konturen auf einen Zelluloidstreifen und deren planimetrische Ausmessung. Die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel zeigt eine weit raschere Ausbreitung als die reine Farbstoffquaddel, dagegen weist die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine gewisse Hemmung der Ausbreitung auf, wenn eine hyaluronidasehemmende Substanz appliziert wird.

Nach M a d i n a v e i t t a ³⁶ verläuft das Spreading zweiphasisch und lediglich die innerhalb der ersten 10 Minuten ablaufende Reaktion ist sicher ein echter Effekt der Hyaluronidase. Nach G i b b i a n ³⁷ beruht die durch Hyaluronidase verstärkte Diffusion einer intracutan gesetzten Quaddel auf dem Druck, den das Flüssigkeitsdepot auf seine Umgebung ausübt. Nach Ablauf der ersten 10 Minuten dürften dann Resorptionsmechanismen im Vordergrund stehen.

Die Versuche wurden in Narkose von 30 mg Evipan-Natrium/100 g Tier durchgeführt, wobei nach W i l h e l m i ³⁸ kein störender Einfluß von Barbituraten auf die Aktivität der Hyaluronidase besteht.

Versuchsreihen

Vorbemerkung

Im Folgenden gilt es, die hyaluronidasehemmende Wirkung von Oestrone-sulfat nachzuweisen. Das Präparat stammt von der Schering A.G. und ist ein Oestrone-sulfatnatriumsalz in Triäthanolamin-Essigsäure-Pufferlösung gelöst.

1. Versuchsreihe

In dieser Versuchsreihe wurden den Tieren am 14.4.58 nach der oben angegebenen Methodik je zwei Farbstoff- F_0 und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln FH_0 zur Bestimmung des Leerwertes gesetzt. Zwei Tage später, am 16.4.58, wurde mit einer täglichen subcutanen Applikation von 50 /100 g Tier Oestrone-sulfat in einer Gesamtflüssigkeitsmenge von 1 ccm/100 g bis zum 16.5.58 begonnen. Am 16.5.58 wurden wiederum je zwei Farbstoff- F_1 und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln FH_1 gesetzt und die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität nach unten beschriebenen Vorgehen errechnet. (Versuchsreihe 1a) Tabelle 1 und 10.

Bis zum 13.6.58 blieben die Tiere dann applikationsfrei. An diesem Tag wurde wiederum die Hyaluronidasehemmung bestimmt. (Versuchsreihe 1b) Tabelle 1 und 9 (F_2 und FH_2).

2. Versuchsreihe

Am 18.6.58 wurde einem Teil der bisher im Versuch befindlichen Tiere erneut je eine Farbstoff F_0 und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel FH_0 gesetzt. Im Anschluß daran erhielten die Tiere 0,5 mg/100 g Tier Ergotamin subcutan. 20 Minuten danach wurde erneut die Hyaluronidaseaktivität bestimmt. Tabelle 2 und 11.

Farbstoffquaddel am 14.4. = F_0
am 16.5. = F_1
am 13.6. = F_2

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel am 14.4. = FH_0
am 16.5. = FH_1
am 13.6. = FH_2

am 18.6. vor Ergotamin = FH₃
nach Ergotamin = FH₄

3. Versuchsreihe

Einer weiteren Anzahl von Tieren wurde ebenfalls am 18.6.1958 je eine Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gesetzt. Die Tiere erhielten dann 1,5 mg/Tier intravenös Protaminsulfat. Unmittelbar danach wurde erneut die Hyaluronidasehemmung festgestellt. Tabelle 3 und 12.

Farbstoffquaddel am 14.4. = F₀
am 16.5. = F₁
am 13.6. = F₂

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel am 14.4. = FH₀
am 16.5. = FH₁
am 13.6. = FH₂
am 18.6. vor Protaminsulfat = FH₃
nach Protaminsulfat = FH₄

4. Versuchsreihe

Der Rest der Tiere blieb als Kontrollversuch unbehandelt und erhielt am 18.6. je eine Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel. Tabelle 4 und 13.

Farbstoffquaddel am 14.4. = F₀
am 16.5. = F₁
am 13.6. = F₂

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel am 14.4. = FH₀
am 16.5. = FH₁
am 13.6. = FH₂
am 18.6. = FH₃

5. Versuchsreihe

Aus Vergleichsgründen wurden völlig unbehandelte Tiere am 19.3.1958 und 18.4.1958 und am 16.5.1958 mit je zwei Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln gequaddelt, um festzustellen, ob eine im Laufe dieses Versuchszeitraumes zwangsläufig auftretende Gewichtszunahme einen Einfluß auf die Ergebnisse ausübt (Tabelle 5, 14 und 15).

Berechnung der prozentualen Hemmung

Zur Berechnung der prozentualen Hyaluronidasehemmung wurde die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor dem Versuch einer 0%igen Hemmung gleichgesetzt, während die reine Farbstoffquaddel vor dem Versuch einer 100%igen Hemmung entspricht, da eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel mit vollständig gehemmter Hyaluronidaseaktivität die gleiche Ausbreitungsgeschwindigkeit aufweisen würde. Unter Zugrundelegung dieser beiden Festpunkte wurde aus der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nach Applikation von Oestroneulfat bzw. zusätzlich nach Ergotamin-tartrat oder Protaminsulfat die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität errechnet. Bei den Versuchen der 1. Versuchsreihe wurden Doppelbestimmungen durchgeführt, deren Mittelwerte der Berechnung zugrundegelegt wurden. Die reine Farbstoffquaddel nach Applikation der betreffenden Substanzen diente lediglich der statistischen Feststellung in wie weit auch ein Einfluß der untersuchten Stoffe auf die Ausbreitung des Farbstoffs ohne Beimischung der Hyaluronidase vorliegt.

Statistische Auswertung der Ergebnisse

1. Versuche mit Oestroneulfat

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse hatte zu untersuchen, ob zwischen der Ausbreitung der Farbstoff- bzw. der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel zu den verschiedenen Zeitpunkten des Versuches statistisch gesicherte Unterschiede bestehen. Es wurde hierbei zunächst der reine Langzeitversuch mit sämtlichen 20 Versuchstieren ausgewertet, anschließend wurden entsprechend der in der Versuchsanordnung vorgenommenen Aufgliederung der Tiere, das Verhalten der einzelnen Tiergruppen während des Langzeitversuches und des Zusatzversuches untersucht.

Prinzipiell handelte es sich bei der statistischen Auswertung um einen simultanen Vergleich mehrerer Mittelwerte. Die Methode der Wahl ist hierfür die mehrfache Varianz-Analyse. Hierbei wird angenommen, daß die Änderungen, die ein Quaddel-Typus (reine Farbstoff- bzw. Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel) erfährt, im wesentlichen nur von den Zeitpunkten, nicht jedoch von den einzelnen Versuchstieren abhängt. Die Rest-Varianz, die sich aus den Varianz-Analysen ergibt, ist dann eine Schätzung für die Abweichung, welche die empirisch bestimmten Werte von diesem statistischen Modell aufweisen.

Wir faßten sie als eine Schätzung des Versuchsfehlers auf und legten sie daher sämtlichen statistischen Prüfungen zugrunde.

Die Varianz-Analysen führten wir einzeln für die reine Farbstoff-Quaddel und für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel durch. Ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen der Ausbreitung eines Quaddel-Typus zu verschiedenen Zeiten kann nur dann behauptet werden, wenn die Varianz-Komponente, die zu dem Unterschied zwischen den Zeiten gehört, statistisch wesentlich größer ist als die Rest-Varianz. Ob dieses der Fall ist, prüften wir jedesmal mit Hilfe des F-Testes. Nur wenn der errechnete Varianz-Quotient $F_{emp.}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung eine Überschreitungswahrscheinlichkeit besitzt, die höchstens gleich 5 bzw. höchstens gleich 1% ist, kann als statistisch schwach bzw. statistisch ausreichend gesichert gelten, daß zwischen der Ausbreitung der Quaddel zu den verschiedenen Zeitpunkten des Versuches gesicherte Unterschiede bestehen.

Die Varianz-Analysen finden sich in den Tabellen 6-9. Es bedeutet hierin jeweils n die Zahl der Freiheitsgrade, SAQ das Summen-Abstands-Quadrat und MAQ das Mittlere-Abstands-Quadrat der jeweiligen Varianz-Komponente. Der Varianz-Quotient zwischen einer Varianz-Komponente und der Rest-Varianz wurde mit $F_{emp.}$ bezeichnet. p ist die Überschreitungswahrscheinlichkeit, die diesem Varianz-Quotienten in der zugehörigen F-Prüfverteilung zukommt, sofern diese Überschreitungswahrscheinlichkeit nicht größer als 5% ist. Ist die Überschreitungswahrscheinlichkeit größer als 5%, so wurde dieses durch einen Strich vermerkt.

Im einzelnen ist das Ergebnis der Varianz-Analysen folgendermaßen zu interpretieren.

Versuchsreihe 1: Bei der reinen Farbstoffquaddel besitzt der zur Varianz zwischen den Zeiten gehörige Varianz-Quotient eine Überschreitungswahrscheinlichkeit, die nicht größer als 5% ist. Bei der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel ist diese Überschreitungswahrscheinlichkeit sogar nicht größer als 0,1%. Für die reine Farbstoffquaddel kann somit als statistisch schwach gesichert, für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel als statistisch stark gesichert gelten, daß die Ausbreitung dieser Quaddeln im Rahmen des Langzeitversuches wesentlich von dem Zeitpunkt abhängt, an dem diese bestimmt wurden.

Versuchsreihen 2-4: Die Varianz-Analysen über das Verhalten der

Farbstoffquaddel innerhalb der einzelnen Tiergruppen bezieht sich nur auf den reinen Langzeitversuch, da bei dem Zusatzversuch keine reinen Farbstoffquaddeln gesetzt wurden. Lediglich für die Versuchsreihe 4 liegt eine schwach gesicherte Abhängigkeit in der Größe der reinen Farbstoffquaddel vom Zeitpunkt des Setzens innerhalb des Langzeitversuches vor (Überschreitungswahrscheinlichkeit des zugehörigen Varianz-Quotienten nicht größer als 5%). Bei der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel liegt in allen Versuchsreihen eine stark gesicherte Abhängigkeit der Ausbreitung dieser Quaddeln vom Zeitpunkt des Setzens innerhalb des Gesamtversuches vor. Das oben erhaltene Ergebnis für alle Tiere innerhalb des Langzeitversuches bleibt also bestehen, wenn man die Tiere in die 3 Tiergruppen aufteilt.

Die Varianz-Analysen liefern zwar eine generelle Aussage darüber, daß die Ausbreitung der reinen Farbstoffquaddel bzw. der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel während des Gesamt-Versuches nicht konstant ist, sie geben jedoch keinen Aufschluß darüber, zu welchen Zeitpunkten eine statistisch gesicherte Abweichung dieser Ausbreitung von dem Wert vor Beginn des Versuches vorliegt. Um diese Frage zu beantworten war es notwendig, im Anschluß an die Varianz-Analysen einen Mittelwertsvergleich durchzuführen, zu dem wir den Duncan-Test verwandten.

Den Varianz-Analysen lag die Annahme zugrunde, daß die Änderungen, welche ein Quaddel-Typus von einem Zeitpunkt des Versuches zum anderen erfährt, im wesentlichen von den Versuchstieren unabhängig ist. Errechnet man für jeden Quaddel-Typus für jeden Zeitpunkt des Versuches den Mittelwert $\bar{x}$, der hierbei ermittelten Werte der Quaddelgrößen, so ist die Differenz zwischen den zu verschiedenen Zeitpunkten gehörigen Mittelwerten die beste statistische Schätzung für die Änderungen, welche dieser Quaddel-Typus von einem Zeitpunkt zum anderen erfährt. In den Tabellen 10-13 sind diese Mittelwerte $\bar{x}$ angegeben, und zwar in der Tabelle 10 für den reinen Langzeitversuch, in den Tabellen 11-13 für die einzelnen Tiergruppen sowohl für den Langzeitversuch als auch für die Zusatzversuche. Außerdem findet sich in den Tabellen die Varianz s^2 zwischen den zu dem betreffenden Zeitpunkt bestimmten Meßwerten. Schließlich ist in der Spalte $\bar{x}_t - \bar{x}_0$ die Differenz zwischen dem Mittelwert des betreffenden Zeitpunktes und dem Mittelwert vor Beginn des Versuches angegeben. Die Frage, ob zu dem Zeitpunkt eine Beeinflussung des Hyaluronidase-Mechanismus

durch den Versuch vorliegt oder nicht, ist äquivalent mit der Frage, ob diese Differenzen statistisch wesentlich von 0 verschieden sind. Das Ergebnis dieser Prüfung, die wir mittels des Duncan-Testes unter Verwendung der Rest-Varianz der Varianz-Analysen als Fehler-Varianz durchführten, ist ebenfalls in den Tabellen in der mit "Sicherung" überschriebenen Spalte angegeben. Die Aussage, daß die fraglichen Differenzen von 0 verschieden sind, kann als statistisch schwach bzw. als statistisch ausreichend gesichert gelten, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit für diese Aussage nicht größer als 5% bzw. nicht größer als 1% ist. Wir haben daher in der genannten Spalte die Irrtumswahrscheinlichkeit für diese Aussage angegeben, die wir mittels des Duncan-Testes ermittelten. Ist diese Irrtumswahrscheinlichkeit größer als 5%, d.h. liegt keine statistische Sicherung für die Aussage vor, daß die Differenz wesentlich von 0 verschieden ist, so wurde dieses durch einen Strich vermerkt.

Außerdem enthalten die Tabellen 10-13 noch die prozentuale Hyaluronidasehemmung, die wir in der üblichen Weise errechneten. Wir gingen dabei allerdings nicht von den ebenfalls in den Tabellen enthaltenen Mittelwerten $\bar{x}$ aus, sondern verwendeten, um Abrundungsfehler zu vermeiden, die Gesamtsumme der gemessenen Quaddelgrößen.

2. Versuche mit unbehandelten Tieren

Ziel der statistischen Analyse war es zu prüfen, ob die Ausbreitung beider Quaddeltypen über den gesamten Zeitraum des Versuches hinweg als konstant angesehen werden kann.

Der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse wurde ein entsprechendes lineares Modell zugrundegelegt, wie es auch bei der Auswertung des Versuches über die Hyaluronidasehemmung bei Medikation zur Anwendung gelangte. Es war jedoch in diesem Falle nicht notwendig, die Farbstoffquaddel und die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel getrennt zu behandeln, da die Prüfhypothese impliziert, daß die beiden Quaddeltypen sich vollkommen gleichartig verhalten.

Entsprechend dem zugrundegelegten linearen Modell erfolgte die Auswertung mittels einer mehrfachen Varianz-Analyse. Die hierbei ermittelten Varianz-Komponenten der Gesamt-Varianz, sowie die Zahl der ihnen zukommenden Freiheitsgrade sind in der Tabelle 14 in der üblichen Form zusammengestellt. Die Ergebnisse der Varianz-Analyse sind wie folgt zu interpretieren.

a) Der Mittelwert von zwei zusammengehörigen Einzelbestimmungen ist mit einem mittleren Fehler behaftet, der sich aus der Varianz zwischen diesen beiden Einzelbestimmungen schätzen läßt. Eine genauere Schätzung dieses mittleren Fehlers erhält man, wenn man alle 72 Doppelbestimmungen berücksichtigt und annimmt, daß der mittlere Fehler innerhalb aller Doppelbestimmungen gleich ist. Eine unabhängig von der Varianz-Analyse durchgeführte Prüfung dieser Annahme mittels des Testes von Bartlett ergab, daß die Meßergebnisse dieser Annahme nicht widersprechen (s. unten). Die in der Varianz-Analyse angegebene "Varianz innerhalb der Doppelbestimmungen" stellt somit die beste, aus den Versuchsergebnissen zu gewinnende, Schätzung der Varianz zwischen zusammengehörigen Einzelbestimmungen dar. Aus ihr ergibt sich als mittlerer Fehler des Mittelwertes $\bar{x}$ einer Doppelbestimmung der Wert $\pm 3,5 \text{ mm}^2$. Als Vertrauensintervall von $\bar{x}$ folgt hieraus $\bar{x} \pm 7,05 \text{ mm}^2$.

b) Die Abweichung der empirischen Ergebnisse von den Hypothesen, die dem linearen Modell zugrundeliegen, drücken sich in der Varianz-Analyse in den Wechselwirkungen "Tiere - Zeiten", "Tiere-Quaddeltypen", "Zeiten - Quaddeltypen" und der "Rest-Varianz" aus. Der Vergleich dieser Wechselwirkungen mit dem experimentellen Fehler (Varianz innerhalb der Doppelbestimmungen) nach dem Varianz-Quotienten-Test, ergibt nur für die Wechselwirkung zwischen Tieren und Quaddeltypen einen Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$, dessen Größe nicht mehr als zufallsbedingt angesehen werden kann (Überschreitungswahrscheinlichkeit $p = 0,1\%$). Die Änderungen, welche die Quaddeln von einem Bestimmungszeitpunkt zum anderen erfahren, können somit als unabhängig vom Versuchstier und vom Typus der Quaddel angesehen werden. Dagegen ist der Unterschied zwischen den beiden Quaddeltypen wesentlich von dem jeweiligen Versuchstier abhängig (s. unten unter d).

c) Die mittlere Änderung, welche die Größe der Quaddeln von einem Zeitpunkt zum anderen erfährt, und die wie oben bemerkt, von den Versuchstieren und dem Typus der Quaddeln unabhängig ist, drückt sich in der "Varianz zwischen den Zeiten" aus. Diese ist zahlenmäßig wesentlich kleiner als der experimentelle Fehler, d.h. die Änderungen der Quaddelgrößen im Verlaufe des Versuches liegen vollkommen in dem Bereich des experimentellen Fehlers. Die vorliegenden Versuche berechtigen somit zu dem Schluß, daß sich im Verlaufe des Beobachtungszeitraums die Diffusionsgeschwindigkeit weder bei der

Farbstoff- noch bei der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel geändert haben. Zur Beurteilung dieses Ergebnisses ist es vielleicht von Bedeutung zu bemerken, daß in dem gleichen Zeitraum die Tiere eine wesentliche Gewichtszunahme erfahren haben, deren Betrag im Mittel $132 \pm 5,6$ g betrug.

d) Die gesicherte Wechselwirkung zwischen Tieren und Quaddeltypen bringt zum Ausdruck, daß der Unterschied zwischen der Größe der Farbstoff- und der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vom Versuchstier abhängig ist. Eine orientierende Untersuchung dieses Sachverhaltes durch Berechnung der Regression zwischen Farbstoffquaddeln und den Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln zeigte, daß der Unterschied zwischen den beiden Quaddel-Typen annähernd linear mit der Größe der Farbstoffquaddel wächst. Eine eingehende Untersuchung wurde an dieser Stelle wegen des für diese Frage geringen Stichprobenumfanges unterlassen, und soll später, bei Vorliegen weiterer Beobachtungen, vorgenommen werden.

In Tabelle 15 ist für jeden Bestimmungszeitpunkt der Mittelwert $\bar{x}$, die Varianz s^2 zwischen zusammengehörigen Einzelmessungen und der sich hieraus ergebende mittlere Fehler $s_{\bar{x}}$ des Mittelwertes einer Doppelbestimmung angegeben. Der Vergleich der Varianzen s^2 mittels des Bartlett-Testes ergab bei $n = 5$ Freiheitsgraden einen Wert $\chi^2_{\text{emp}} = 3,035$, dem eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von höchstens 50% zukommt. Die Varianzen s^2 , welche die Größe des experimentellen Fehlers zum Ausdruck bringen, können daher als vom Zeitpunkt ihrer Bestimmung und vom Typus der Quaddeln unabhängig angesehen werden.

Diskussion

Die Vergleichsversuche der 1. Versuchsreihe an völlig unbehandelten Tieren zeigte zunächst, daß die Gewichtszunahme der Tiere während der 2monatigen Versuchsdauer auf die Ausbreitung der Farbstoff- bzw. Farbstoff+Hyaluronidase-Flecken keinen Einfluß ausübt. Damit war eine Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch die Versuchsdauer nicht gegeben. Die Tiere zeigten keinerlei statistisch faßbare Veränderung der Hyaluronidaseaktivität durch etwaige Faktoren, die außerhalb der Versuchsanordnung zu suchen wären. Die Ergebnisse der 2. Versuchsreihe zeigten, daß nach einmonatiger täglicher

Applikation von 50 /100 g Tier Oestronsulfat erwartungsgemäß eine signifikante Hyaluronidasehemmung sichtbar ist. In der 3. Versuchsreihe wurden die gleichen Tiere weitere 4 Wochen ohne Behandlung gelassen. Es ist zwar eine Abnahme der Hemmung nach diesem Zeitablauf deutlich, jedoch ist mit 30,4% noch eine signifikante Hyaluronidasehemmung sichtbar. Diese Nachwirkung einer längerdauernden Behandlungsperiode haben auch F u m y ³⁹ mit Chloroquin, S c h w a n k ⁴⁰ mit Chloraethylbenzmethoxazon, P r o b s t ⁴¹ mit Acetylsalicylsäure und H a u p t ⁴² mit Moorbädern zeigen können. Diese Autoren haben festgestellt, daß diese Nachwirkung ein Effekt einer länger dauernden Gabe ist, der nach einmaliger Applikation nicht auftritt.

Zur Durchführung der Versuchsreihen 2-4 wurden die in der Versuchsreihe 1 verwendeten Tiere in 3 Untersuchungsgruppen aufgeteilt. Die Ergebnisse zeigen, daß sowohl mit Ergotamintartrat, als auch mit Protaminsulfat die 34 Tage nach einmonatiger Oestronsulfatapplikation noch vorhandene Hyaluronidasehemmung aufgehoben werden kann. Die nicht mit Ergotamin bzw. Protaminsulfat behandelten Tiere zeigen 34 Tage nach der einmonatigen Oestronsulfatapplikation eine noch signifikante wenn auch wiederum etwas geringere Hemmungsaktivität wie 28 Tage nach der Behandlungsserie.

Mit dem Ausfall dieser Untersuchungen wird wahrscheinlich gemacht, daß bei der Spätwirkung die Hyaluronidasehemmung nicht in sich manifest geworden ist, sondern daß laufende Katecholaminausschüttungen bzw. eine laufende Freisetzung von Heparin oder heparinähnlichen Substanzen die Hyaluronidasehemmung unterhält. Es ist bisher eine laufende vermehrte Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark noch nicht sichtbar gemacht worden und dieses wäre Aufgabe weiterer Untersuchungen, die dadurch erschwert sind, daß die Bestimmung des Katecholamingehaltes des Blutes mit den bisher bekannten Methoden kaum möglich sind.

Nach den genannten Untersuchungen von M a t h i e s ³⁰ und S c h e u f e l e ¹¹ ist anzunehmen, daß keine kontinuierliche Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark stattfindet, sondern daß es sich um stoßweise Freisetzungen handelt.

Zusammenfassung

Die Untersuchung der vorgelegten Arbeit hat ergeben, daß die nach einer vierwöchigen täglichen Oestronsulfatbehandlung an weißen Ratten sichtbare Hyaluronidasehemmung, auch nach einer weiteren vierwöchigen Behandlungspause deutlich ist. Diese Hyaluronidasehemmung konnte mit Ergotamintartrat und Protaminsulfat aufgehoben werden. Im Zusammenhang mit früheren Untersuchungen wird wahrscheinlich gemacht, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Oestronsulfates auch als Spätwirkung über eine laufende Nebennierenmarktätigkeit und durch Heparinfreisetzung unterhalten wird.

Tabellenanhang

Tier Nr.	Leerversuch 1 - 14.4.1958			Versuch 1 a - 16.5.1958			Versuch 1 b - 13.6.1958		
	Gewicht in g	Farbst.-Qu. F ₀	Farbst.+Hyase- Quaddel, FH ₀	Gewicht in g	Farbst.-Qu. F ₁	Farbst.+Hyase- Quaddel, FH ₁	Gewicht in g	Farbst.-Qu. F ₂	Farbst.+Hyase- Quaddel, FH ₂
116	150	130 140	229 245	240	139 140	183 194	290	140 135	190 230
133	155	150 130	234 260	215	126 130	197 193	265	128 135	209 200
154	142	132 145	218 264	185	114 141	157 218	230	119 153	199 205
155	146	110 170	258 242	215	131 134	190 196	260	133 135	219 200
156	165	132 146	240 260	185	99 129	190 200	230	160 130	190 230
157	144	126 125	248 260	190	115 135	190 200	245	150 145	211 195
158	169	130 146	218 260	195	139 138	190 212	250	102 145	210 214
159	144	118 160	272 198	195	138 151	194 174	245	111 146	216 200
161	140	120 170	249 230	210	133 142	230 176	280	141 136	195 225
163	140	128 150	217 266	175	128 136	188 213	230	128 137	221 222

T a b e l l e 1

Tier Nr.	Leerversuch 1 - 14.4.1958			Versuch 1 a - 16.5.1958			Versuch 1 b - 13.6.1958		
	Gewicht in g	Farbst.-Qu. F ₀	Farbst.+Hyase- Quaddel, FH ₀	Gewicht in g	Farbst.-Qu. F ₁	Farbst.+Hyase- Quaddel, FH ₁	Gewicht in g	Farbst.-Qu. F ₂	Farbstoff+Hyase- Quaddel, FH ₂
164	136	139 145	214 240	210	128 151	198 200	270	155 160	220 200
165	155	126 154	230 269	205	148 136	218 186	250	161 131	212 216
166	135	124 130	229 253	180	104 97	189 170	250	154 100	224 196
167	130	116 150	230 270	170	116 150	203 170	240	145 138	116 230
168	140	115 145	262 202	170	129 135	201 190	245	140 151	201 227
172	130	124 140	212 265	140	132 145	202 185	190	170 100	185 205
173	145	143 138	210 210	175	136 136	194 194	245	146 151	226 210
174	130	133 113	229 145	150	123 135	181 195	205	140 132	201 217
176	155	122 148	240 250	• 185	145 137	197 181	240	147 130	215 217
177	152	129 128	230 250	180	134 135	200 173	230	134 152	200 212

T a b e l l e 1 (Fortsetzung)

Tier Nr	Gewicht in g 18.6.58	Farbst.-Qu. F ₀ , 14.4.58	Farbstoff+ Hyase-Qu. FH ₀ , 14.4.	Farbst.-Qu. F ₁ , 16.5.58	Farbstoff+ Hyase-Qu. FH ₁ , 16.5.	Farbst.-Qu. F ₂ , 13.6.58	Farbstoff+ Hyase-Qu. FH ₂ , 13.6.	Farbstoff+ Hyase-Qu. vor Ergot. FH ₃ , 18.6.	Farbstoff+ Hyase-Qu. Nach Ergot. FH ₄ , 18.6.
116	300	135	237	139	188	137	210	215	230
159	245	139	235	144	184	128	208	210	232
167	230	133	250	133	186	141	173	226	241
174	200	123	245	129	188	136	209	215	239
176	250	135	245	141	189	138	216	217	238
177	235	128	240	134	186	143	206	210	252

T a b e l l e 2
(Versuchsreihe 2, 18.6.1958)

Tier Nr.	Gewicht in g 18.6.58	Farbst.- Qu. F ₀ 14.4.	Farbst.+Hy.- Qu. FH ₀ 14.4.58	Farbst.- Qu. F ₁ 16.5.	Farbst.+Hy.- Qu. FH ₁ 16.5.58	Farbst.- Qu. F ₂ 13.6.	Farbst.+Hy.- Qu. FH ₂ 13.6.58	Farbst.+Hy.- Qu. FH ₃ 18.6.58 vor Protamin	Farbst.+Hy.- Qu. FH ₄ 18.6.58 nach Protamin
155	265	140	250	132	193	134	209	215	265
133	270	140	247	128	195	131	204	210	238
157	250	125	254	125	195	147	203	205	250
158	250	143	239	138	201	123	212	216	235
161	265	145	240	137	203	128	210	215	236
168	245	130	238	132	195	144	214	217	235
173	240	140	240	136	194	148	218	225	240

T a b e l l e 3

Tier Nr.	Gewicht in g 18.6.58	Farbst.-Qu. F ₀ , 14.4.	Farbst.+Hy.-Qu. FH ₀ , 14.4.58	Farbst.-Qu. F ₁ , 16.5.	Farbst.+Hy.-Qu. FH ₁ , 16.5.58	Farbst.-Qu. F ₂ , 13.6.	Farbst.+Hy.-Qu. FH ₂ , 13.6.58	Farbst.+Hy.-Qu. FH ₃ , 18.6.58
154	235	138	241	127	187	136	202	210
156	230	139	250	114	195	145	210	215
163	235	139	242	132	200	132	221	228
164	260	143	227	139	199	157	210	218
165	255	135	249	142	202	146	214	220
166	250	127	241	100	179	127	210	214
172	200	132	238	138	193	135	195	213

T a b e l l e 4

Tier Nr.	Versuch I - 19.3.1958			Versuch II - 18.4.1958			Versuch III - 16.5.1958		
	Gewicht in g	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+Hyase- Quaddel	Gewicht in g	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+Hyase- Quaddel	Gewicht in g	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+Hyase- Quaddel
1	132	131 139	256 260	182	145 135	261 251	240	150 133	260 251
2	140	126 128	243 234	252	136 125	247 243	325	140 140	251 243
3	138	138 130	246 242	205	135 127	253 245	245	137 134	240 233
4	150	131 140	258 263	242	138 130	250 253	328	140 135	255 251
5	148	125 134	231 222	206	130 130	227 235	258	133 129	230 239
6	152	127 130	235 229	227	128 138	236 244	305	134 130	236 227
7	160	139 136	254 252	245	138 138	249 239	332	146 137	243 250
8	149	124 119	220 228	210	128 130	228 235	240	128 123	231 221
9	142	143 139	245 240	188	136 133	237 241	230	140 144	239 241
10	125	156 158	258 264	235	149 148	260 266	285	146 138	262 258
11	145	157 148	267 268	235	146 147	254 259	263	153 152	270 261
12	153	120 127	220 -	222	122 129	213 208	260	127 128	220 229
13	135	140 138	253 250	177	132 130	250 268	250	135 139	254 244

Farbstoff-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	19	1.599	84	1,25	-
Zwischen Zeiten	2	424	212	3,16	5,0%
Rest-Varianz	38	2.528	67		
Gesamt-Varianz	59	4.551	77		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	19	1.049	55	-	
Zwischen Zeiten	2	22.426	11.213	81,84	0,1%
Rest-Varianz	38	5.198	137		
Gesamt-Varianz	59	28.673	486		

T a b e l l e 6
(Versuchsreihe 1)

Farbstoff-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	534	107	-	
Zwischen Zeiten	4	10.681	2.673	14,21	0,1%
Rest-Varianz	20	3.760	188		
Gesamt-Varianz	29	14.985	517		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	150	30	-	
Zwischen Zeiten	2	94	47	1,51	-
Rest-Varianz	10	312	31		
Gesamt-Varianz	17	556	33		

T a b e l l e 7
(Versuchsreihe 2)

Farbstoff-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	6	219	36	-	0,1%
Zwischen Zeiten	4	11.961	2.990	53,39	
Rest-Varianz	24	1.349	56		
Gesamt-Varianz	34	13.529	398		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	6	206	34	-	-
Zwischen Zeiten	2	192	96	1,85	
Rest-Varianz	12	619	52		
Gesamt-Varianz	20	1.017	51		

T a b e l l e 8
(Versuchsreihe 3)

Farbstoff-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	6	720	120	3,24	5,0%
Zwischen Zeiten	3	8.243	2.748	74,27	0,1%
Rest-Varianz	18	670	37		
Gesamt-Varianz	27	9.633	357		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	6	1.393	232	3,68	5,0%
Zwischen Zeiten	2	560	280	4,44	5,0%
Rest-Varianz	12	755	63		
Gesamt-Varianz	20	2.708	135		

T a b e l l e 9
(Versuchsreihe 4)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	Sicherung
F_0	136	43			
FH_0	239	196			
F_1	132	105	- 4		
FH_1	193	42	- 46	44,9%	1%
F_2	139	69	+ 3		
FH_2	208	90	+ 15	30,4%	1%

T a b e l l e 10
(Versuchsreihe 1)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	Sicherung
F_0	132	33			
FH_0	232	523			
F_1	137	33	- 5		
FH_1	187	3	- 45	46,9%	1%
F_2	137	27	- 5		
FH_2	203	237	- 29	29,5%	1%
FH_3	215	35	- 17	17,3%	5%
FH_4	238	61	+ 6	- 6,5%	-

T a b e l l e 11
(Versuchsreihe 2)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	Sicherung
F_0	140	27			
FH_0	243	58			
F_1	133	23	- 7		
FH_1	196	14	- 47	43,7%	1%
F_2	138	87	- 2		
FH_2	210	26	- 33	30,9%	1%
FH_3	215	38	- 28	26,6%	1%
FH_4	243	124		0,3%	-

T a b e l l e 12
(Versuchsreihe 3)

	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	Sicherung
F_0	137	28			
FH_0	241	58			
F_1	127	226	- 10		
FH_1	194	69	- 47	44,6%	1%
F_2	140	104	+ 3		
FH_2	209	69	- 32	30,3%	1%
FH_3	217	35	- 24	22,8%	1%

T a b e l l e 13
(Versuchsreihe 4)

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen den Tieren	11	11.420	1.038		0,1%
Zwischen den Zeiten	2	4	2		-
Zwischen den Quaddel-Typen	1	434.501	434.501		0,1%
Tiere - Zeiten	22	890	40	1,60	-
Tiere - Quaddel-Typen	11	1.499	136	5,44	0,1%
Zeiten - Quaddel-Typen	2	96	48	1,92	-
Rest-Varianz	22	565	26	1,00	-
Zwischen Doppelbestimmung	71	448.975	6.324		
Innerhalb Doppelbestimmung	72	1.802	25		
Gesamt-Varianz	143	450.777	3.152		

T a b e l l e 14

(Versuchsreihe 5)

	N	$\bar{x}$	s^2	$s_{\bar{x}}$
F ₀	12	136	18,4	1,24
FH ₀	12	247	16,4	1,17
F ₁	12	135	19,8	1,28
FH ₁	12	247	36,1	1,73
F ₂	12	137	29,2	1,56
FH ₂	12	245	30,1	1,58

T a b e l l e 15

(Versuchsreihe 5)

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H. u. Jankowski, A.: Klin. Wschr. 35, 892 (1957)
- 2) Mathies, H.: Med. Mschr. 11, 791 (1957)
- 3) Mathies, H.: Ärztl. Forsch. 12 I/87 (1958)
- 4) Mathies, H.: Verb. Dtsch. Ges. Inn. Med. 64, 617 (1958)
- 5) Mathies, H.: 6. Intern. Kongr. f. univers. Moorforsch. 5.-9. Juni 1958
Brüssel und Spa/Belgien
- 6) Mathies, H.: Arzneim.-Forsch. 8, 233 (1958)
- 7) Mathies, H.: Med. Mschr. 12, 685 (1958)
- 8) Mathies, H.: Zschr. Rheuma-Forsch. 17, 375 (1958)
- 9) Mathies, H. u. Werther, G.v.: Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 503 u.
582 (1958)
- 10) Mathies, H.: Zschr. ges. exper. Med. 151, 118 (1959)
- 11) Scheufele, R.: Diss. München 1958
- 12) Schlierf, G.: Diss. München 1959
- 13) Wiesmüller, J.: Diss. München 1958
- 14) Jankowski, A.: Diss. München 1957
- 15) Kuepach, M.v.: Diss. München 1957
- 16) Werther, G.v.: Diss. München 1958
- 17) Knittlmayer, W.: Diss. München 1959
- 18) Rösch, U.: Diss. München in Vorbereitung
- 19) Hartmann, M.: Diss. München 1959
- 20) Biechele, I.: Diss. München 1959
- 21) Jung, M.: Diss. München in Vorbereitung
- 22) Gerson, U.: Diss. München in Vorbereitung
- 23) Glück, A.: Diss. München 1959
- 24) Poulantzas, J.: Diss. München 1958
- 25) Schmidt, D.: Diss. München in Vorbereitung
- 26) Schub, T.: Diss. München 1959
- 27) Schwalbach, C.: Diss. München 1959
- 28) Domenjoz, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 225, 14 (1955)
- 29) Sayers, S. u. Sayers, M.: Endocrinology (Springfield), 40, 256 (1947)
- 30) Mathies, H.: Arch. intern. Thér. et Pharmacodyn. im Druck
- 31) Mathies, H.: in Vorbereitung
- 32) Lingnau, W.: Diss. München in Vorbereitung
- 33) Maxein, H.: Diss. München 1959
- 34) Mathies, H.: in Vorbereitung

- 35) Willms, D.: Diss. München in Vorbereitung
- 36) Madinaveitia, J.: Biochemic J. 32, 1806 (1938)
- 37) Gibian, H.: Erg. d. Enzymforsch. 13, 1 (1954)
- 38) Wilhelmi, G.: zit. Domenjoz (28)
- 39) Fumy, A.: Diss. München in Vorbereitung
- 40) Schwank, M.: Diss. München in Vorbereitung
- 41) Probst, M.: Diss. München in Vorbereitung
- 42) Haupt, G.: Diss. München in Vorbereitung

Abschließend möchte ich Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates herzlich danken.

Herrn Dr. H. Mathies bin ich für die Einführung in die Methodik, die Anregungen zu dieser Arbeit und für ihre Gestaltung zu besonderem Dank verbunden.

Außerdem möchte ich Herrn Diplom-Mathematiker K. G. Liebrich für die Beratung in der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse danken.

Am 21.3.1934 wurde ich in Wittlich an der Mosel geboren. Nach Besuch der Grundschule von 1941 bis 1945 war ich Schülerin des neusprachlichen Gymnasiums in Wittlich bis zum Abitur im März 1954.

Im Mai 1954 habe ich mein Medizinstudium an der Universität Bonn begonnen. Zwei weitere Semester studierte ich an der Universität Freiburg, danach wechselte ich nach Heidelberg, wo ich im Sommer 1956 die ärztliche Vorprüfung ablegte. In den beiden folgenden Semestern setzte ich mein Studium an den Universitäten Wien und Paris fort. Im Winter 1957/58 schrieb ich mich an der Universität München ein und begann hier im März 1958 mit der Bearbeitung meines Promotions-themas an der Medizinischen Poliklinik. Mein medizinisches Staats-examen habe ich am 24.3.60 beendet.

